

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکترای تخصصی (Ph.D) رشته علوم تشریحی

عنوان

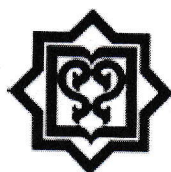
بررسی تاثیر ترانلیست و فراکسیون پترولئوم اتر کلپوره بر تکثیر سلولهای آندوتلیال
ورید بند ناف انسانی در محیط کشت دو بعدی و آنژیوژنز آئورت موش صحرایی در
محیط کشت سه بعدی

توسط : فاطمه شیخ بهایی

اساتید راهنما:

دکتر سید نورالدین نعمت اللهی ماهانی-دکتر مظفر خزاعی

سال تحصیلی: ۱۳۹۸-۱۳۹۷



Kerman University of Medical Sciences

Faculty of Medicine

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree
(PhD)

Title:

Effects of Tranilast and Petroleum ether fraction of Teucrium Polium on proliferation of human umbilical vein endothelial cells in two-dimensional culture and in vitro angiogenesis of rat aorta in three-dimensional culture model

By:

Fatemeh sheikhbahaei

Supervisors:

Dr.Seyed Nouredin Nematollahi-Mahani - Dr. Mozafar Khazaei

Year:

August ۲۰۱۸



چکیده

مقدمه و هدف: آنژیوژنز به معنای تشکیل عروق جدید از عروق اولیه است و در بسیاری از پدیده های فیزیولوژیک مانند ترمیم زخم و شرایط پاتولوژیک مانند رشد تومور و رتینوپاتی دیابتی روی می دهد. ترانلیست به عنوان دارویی که می تواند برای درمان سرطان به کار رود، معرفی گردیده است. متأسفانه مقاومت به داروهای شیمیایی مشکل اصلی را در درمان این بیماری ایجاد می کند. درمان ترکیبی با استفاده از داروهای گیاهی، فعالیت ترانلیست را در مقابل سلول های سرطانی افزایش می دهد. هدف این مطالعه بررسی اثر ترانلیست در ترکیب با کلپوره بر رده سلولی آندوتلیال ورید بند ناف انسانی بود.

روش تحقیق: زیست پذیری سلول ها توسط تکنیک های رنگ آمیزی تریپان بلو، MTT، سنجش فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز ارزیابی شد. رنگ آمیزی آکریدین اورنج/ اتیدیوم بر مایند، برای بررسی آپوپتوز انجام گرفت. تولید نیتریک اکساید مورد بررسی قرار گرفت. اثر ترانلیست و/یا کلپوره بر پتانسیل مهاجرت سلول ها با استفاده از تکنیک خراش زخم مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی تغییر بیان ژن ها از تکنیک Real Time PCR استفاده شد. جهت ارزیابی رگ زایی، از مدل کشت سه بعدی آئورت موش صحرایی استفاده شد.

یافته ها: بعد از تیمار با ترانلیست و کلپوره، زیست پذیری سلول ها کاهشی وابسته به پیمانه و زمان را نشان داد. ترکیب ترانلیست و کلپوره اثر سمیت هم افزا بر سلول ها داشت. کلپوره آپوپتوز القا شده با ترانلیست را افزایش می داد. تیمار با کلپوره سبب کاهش تولید نیتریک اکساید گردید. این تیمار بیان Bax را افزایش و Bcl-2 را کاهش داده، که منجر به فعال شدن آپوپتوز می گردد. بیان ژن های دخیل در روند آنژیوژنز شامل β_1 - β_2 - β_3 و همچنین $TGF-\beta_1$ ، $TGF-\beta_2$ ، $TGF-\beta_3$ ، $TGF-\beta_4$ ، $TGF-\beta_5$ و $TGF-\beta_6$ کاهش یافت. به علاوه بعد از تیمار با ترانلیست و/یا کلپوره کاهش پتانسیل مهاجرت سلول ها، در سلول های HUVEC مشاهده گردید. همچنین تیمار با ترانلیست و/یا کلپوره منجر به مهار آنژیوژنز در مدل کشت سه بعدی گردید.

بحث و نتیجه گیری: این یافته ها می تواند موید این باشد که کلپوره می تواند به عنوان کاندیدای مناسب جهت مقابله با پیشرفت مراحل آنژیوژنز معرفی گردد. اگرچه تایید آن نیاز به پژوهش های بیشتری دارد.

کلمات کلیدی: آنژیوژنز، کلپوره، ترانلیست، آپوپتوز

Abstract

Purpose: Angiogenesis “the formation of new vessels from the primary arteries” occurs in many physiological events such as wound healing and pathological conditions such as tumor growth and diabetic retinopathy. Tranilast as an anti-fibrotic drug induces the promising antitumor activities through the inhibition of angiogenesis. Further, *Teucrium polium* (TP) is a herbal medicine (family Lamaceae) with antitumor properties. This study was conducted to investigate the combination effects of tranilast and *T. polium* on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs).

Methods: The cell cytotoxicity was evaluated using Trypan blue, MTT and LDH assays; apoptosis was examined using acridine orange/ethidium bromide staining, nitric oxide (NO) production was evaluated using Griess reaction and the expression of genes were detected using real-time RT-PCR. The effect of tranilast and / or TP on the cell migration was investigated using *In vitro* scratch assay. For evaluation of angiogenesis, three-dimensional fibrin matrix culture of rat aortic was carried out.

Results: The survival rate of HUVECs was significantly reduced in a dose dependent manner

by tranilast and *T. polium*. However, *T. polium* and tranilast combination significantly reduced cell viability and increased apoptotic cells as compared to each drug alone. Also, HUVECs treated with tranilast / *T. polium* combination showed a reduced level of NO as regards to cells exposed only to tranilast or *T. polium*. Furthermore, a significant increase in BAX and a decrease in BCL-2 mRNA expression were observed in combination group. In addition, treatment with *T. polium* and/or tranilast resulted in significant decreased in TGF- α , β , TGF- β mRNA expression. Treatment with *T. polium* and/or tranilast also resulted in inhibition of angiogenesis in three-dimensional culture of rat aortic model.

Conclusion: *T. polium* synergistically increased the antiangiogenic effect of tranilast on *in vitro* angiogenic model of HUVECs

Keywords: Angiogenesis, Apoptosis, *Teucrium polium*, Tranilast



بسمه تعالی

صور تجلسه دفاع از پایان نامه

دانشگاه علوم پزشکی کرمان

سیریت تحصیلات تکمیلی دانشگاه

تاریخ ۹۷/۵/۳

شماره

پیوست

حله دفاعیه پایان نامه تحصیلی خانم فاطمه شیخ بهایی دانشجوی دکتری تخصصی (Ph.D) رشته علوم تشریحی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " بررسی تأثیر ترانیلست و فراکسیون پترولئوم اتر کلپوره بر تکثیر سلولهای آندوتلیال ورید بند ناف انسانی در محیط کشت دو بعدی و رگرایی آنورث موش صحرایی در محیط کشت سه بعدی " در ساعت ۱۰ صبح روز چهارشنبه مورخ ۹۷/۵/۳ با حضور اعضای محترم هیات داوران به شرح ذیل:

| سمت | نام و نام خانوادگی | امضا |
|----------------------------|--|------|
| الف: استادان راهنما | جناب آقای دکتر سید نورالدین نعمت الهی و جناب آقای دکتر مظفر خزاعی | |
| ب: استاد مشاور | | |
| ج: عضو هیات داوران (داخلی) | جناب آقای دکتر مسعود عزت آبادی | |
| ج: عضو هیات داوران (داخلی) | جناب آقای دکتر شهریار دبیری | |
| د: عضو هیات داوران (خارجی) | جناب آقای دکتر محمد بیات | |
| د: عضو هیات داوران (خارجی) | سرکار خانم دکتر زهرا تقی پور | |
| ه: نماینده تحصیلات تکمیلی | جناب آقای دکتر علی شمس آرا | |

مورد تأیید قرار گرفت.

۲۰/۱

و نمره

عالی

عکس گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست یا درجه

